



# Aspartyylioglukosaminuria esimerkkinä suomalaisesta tautiperinnöstä

Laura Alaspää

Oulun yliopisto, Biologian koulutusohjelma

Luonnontieteen kandidaatin tutkielma

2020

## Tiivistelmä

Tekijä: Laura Alaspää

Opinnäytetyön nimi: Aspartyylioglukosaminuria esimerkkinä suomalaisesta tautiperinnöstä.

Työn ohjaaja: Lumi Viljakainen

Työn valmistumislukukausi ja –vuosi: Heinäkuu 2020 Sivumäärä: 16

## Tiivistelmä

Aspartyylioglukosaminuria eli AGU-tauti on perinnöllinen ja lysosomaalinen kertymäsairaus, jota esiintyy Suomessa enemmän kuin muualla maailmassa. AGU on peittyvästi periytyvä sairaus, jolloin lapsen on saatava se molemmilta vanhemmilta sairastuakseen siihen. Tämän tutkielman tarkoituksena on kuvailla AGU-taudin aiheuttavia tekijöitä, mahdollisia hoitokeinoja ja itse AGU-taudin vaikutuksia potilaaseen.

AGU johtuu mutaatiosta AGA-geenissä, jonka seurauksena aspartyylioglukosaminidaasi-entsyymien toiminta heikkenee, eikä se hajota glykoproteiineja, eritoten aspartyylioglukosamiinia lysosomeissa, jolloin näitä glykoproteiineja kertyy lysosomeihin. Kertyessään lysosomeihin, ne aiheuttavat solukuolemia, jonka seurauksena AGU-potilas kärsii vakavasta kehityshäiriöstä. AGU-tautia sairastavan keskimääräinen elinikä on 35-40 vuotta. Suomessa AGU-tautia on löydetty kahdentyyppisenä mutaationa. Valtamutaatio AGU<sub>fin</sub> major aiheuttaa 98 % tapauksista ja se johtuu yhden nukleotidin pistemutaatiosta AGA-geenissä aiheuttaen AGA-entsyymien vääränlaisen laskostumisen. 1,5 % Suomessa esiintyvistä AGU-tapauksista johtuu kahden nukleotidin häviämistä AGU<sub>fin</sub> minor AGA-geenissä. Tämä mutaatio aiheuttaa ennenaikaisen lopetuskodonin lukemisen.

AGU-tauti ilmenee potilaan yleisessä terveydessä, ruumiinrakenteessa, sosiaalisissa taidoissa ja ulkonäössä. Tauti voidaan havaita jo vauvaiässä kiihtyneestä kasvusta ja kasvojen epämuodostumien aiheuttamista hengitystieinfektioista. Vanhetessaan oireet lisääntyvät ja 25 ikävuoden jälkeen kehityshäiriö kasvaa radikaalisti, jolloin yksilön toimintakyky heikkenee entisestään päättyen lopulta taaperon tasolle.

AGU-tautiin ei ole vielä löydetty parannuskeinoja, mutta AGA-entsyymien mekanismit ja AGA-geeni tunnetaan hyvin ja meneillään on potentiaalisia tutkimuksia, joilla AGU-taudin voisi parantaa. Näistä yksi on Ritva Tikkasen tutkimusryhmän vetämä kliininen koe Cystadane-lääkkeen toimintatehosta AGU-taudin hoidossa. Tutkimuksen on määrä valmistua lähivuosina. Tällä hetkellä potilaiden oireita voidaan helpottaa kirurgisilla toimenpiteillä ja lääkkeillä elämänlaadun parantamiseksi.

## Sanasto

AGU	Aspartyyli-glukosaminuria
AGA	Aspartyyli-glukosaminidaasi-entsyymi
AGA-geeni	Aspartyyli-glukosaminidaasigeeni
AGU <sub>fin</sub> major	Pistemutaatio AGA-geenissä K163S
AGU <sub>fin</sub> minor	2 nukleotidin häviämämutaatio
AAV	Adenovirus (adeno-associated virus)

## Sisällysluettelo

1. Johdanto.....	4
2. Aspartyyli-glukosaminuria(AGU-tauti).....	6
2.1 Oireet.....	7
2.2 Diagnoosi ja hoito.....	8
3. Aspartyyli-glukosaminidaasigeeni (AGA-geeni) ja sen mutaatiot.....	9
3.1 AGU <sub>fin</sub> major.....	9
3.2 AGU <sub>fin</sub> minor.....	9
4. Aspartylglukosaminidaasi-entsyymi (AGA-entsyymi) .....	10
5. Tulevaisuuden näkymät.....	12
6. Yhteenveto.....	14
7. Lähdeluettelo.....	15

# 1. Johdanto

Suomalaisella tautiperinnöllä tarkoitetaan yksittäisten geenimutaatioiden aiheuttamia sairauksia, joita esiintyy Suomessa suhteellisesti enemmän kuin muissa maissa. Suomalaiset ovat eläneet eristyksessä muista jo vuosisatojen ajan, minkä seurauksena harvinaisia sairauksia aiheuttavat tautigeenit ovat päässeet rikastumaan väestössämme (Kestilä, 2010). Suomalainen tautiperintö on seurausta Suomen kansoittamisen historiasta. Ensimmäiset suomalaiset asettuivat aloilleen noin 10 000 vuotta sitten suppealle alueelle ja lisääntyivät keskenään, jolloin harvinaiset sairaudet pääsivät kertymään pieniin populaatioihin. Suomalaisten populaation kokoon vaikutti vielä kaksi suurta pullonkaulailmiötä, jotka muovasivat geenejämme.

Esi-isiemme mukana tuli vain pieni osa kaikista mahdollisista tautigeeneistä, jotka vaikuttavat nykyiseenkin perimäämme. Geenit eivät päässeet leviämään maailmalle, sillä geneettinen virta oli pientä populaatioiden välillä. Tästä johtuen sairaudet yleistyivät ja osaa taudeista havaitaan yleisimpinä tietyissä maakunnissa, sillä Suomen sisällä pienistä paikkakunnista ei lähdetty (Norio, 2000).

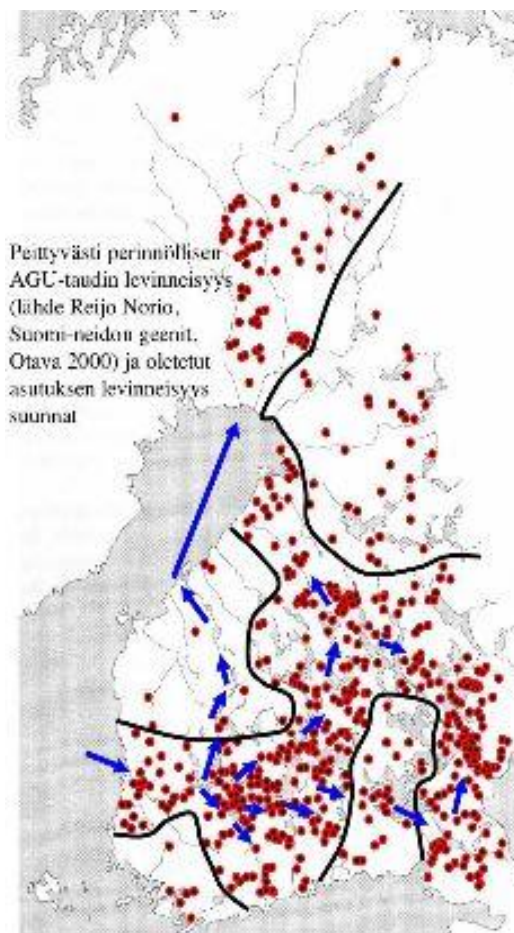
Suomalaiseen tautiperintöön kuuluu tällä hetkellä 36 tautia, joista jokaisen tautigeeni tunnetaan. Viidesosa väestöstämme kantaa jotakin resessiiviseen suomalaiseen tautiperintöön kuuluvaa tautia. Vain neljä tautia 36:sta taudista periytyy muulla tavalla kuin peittyvästi. Kaksi tautia on autosomaalisesti dominoivasti periytyviä ja kaksi tautia X-kromosomissa periytyviä sairauksia (Norio ym., 1973). Peittyvästi periytyvässä taudissa tiedetään, että sairaan lapsen molemmat vanhemmat kantavat kyseistä sairautta aiheuttavaa tautigeeniä. Vanhemmat itse voivat olla joko sairastavia tai terveitä kantajia. Tautihistoriaamme kuuluu sairauksia, joista noin neljännes ilmenee keskushermosto-oirein, mutta myös kasvuhäiriöitä, silmäsairauksia, aineenvaihdunnan häiriöitä ja sikiön kuolemaan johtavia sairauksia esiintyy (Peltonen ym., 1999)

Leena Peltonen-Palotien ryhmä tutki 15 suomalaisen tautiperinnön aiheuttavan sairauden geeniä, joista ensimmäinen oli AGU-tautigeeni. Palotien ryhmä totesi, että jokaisen taudin taustalla on yksi valtamutaatio perustajailmiön vaikutuksesta johtuen. Taudissa voi olla useampaa erilaista muotoa, jotka aiheutuvat mutaatioista geenin eri kohdissa. Valtamutaatioksi määritellään se mutaatio, joka aiheuttaa suurimman osan väestössä esiintyvistä taudin

tapauksista. AGU-taudissa pistemutaation aiheuttama valtamutaatio AGU<sub>fin</sub>major kattaa 98 % tapauksista (Palo ja Autio, 1972). Myöhemmin Peltonen-Palotien ryhmä selvitti AGU-taudissa vaikuttavan entsyymin aspartyyli-glukosaminidaasin kolmiulotteisen kiderakenteen (Oinonen ym., 1995). Kiderakenteen selvittäminen helpotti jatkotutkimuksien aloittamista ja taudista luotiin hiirimalli, jonka avulla ryhmä jatkoi geenihoidokokeilujen parissa (Peltola ym., 1998).

Suomalaisen tautiperinnön sairaudet ovat jakautuneet eri tavoilla. Osa taudeista on keskittynyt tietyille alueille, kuten Pohjois- ja Itä-Suomeen. AGU-tauti yhdessä viiden muun tautiperintöön kuuluvan sairauden kanssa on jakautunut tasaisesti ympäri Suomea (kuva1).

Suomalaisen tautiperinnön tutkiminen on ollut äärimmäisen tärkeää sekä suomalaisten, että ulkomaalaisten kannalta. Tiedot ovat helpottaneet luomaan yhä parempia tautigeenien paikantamiskokeita. Tautigeenin löydyttyä, sairautta ja sen hoitokeinoja voidaan tutkia yksityiskohtaisemmin. Geenin ohjaaman proteiinin toimintamekanismin tunnistaminen ja näin ollen mahdollisten lääkkeiden keksiminen ja sairauksien hoitaminen on tullut mahdolliseksi. Syksyllä 2007 on aloitettu suuri kansainvälinen finngen-tutkimusprojekti, jonka tarkoituksena on kartoittaa puolen miljoonan suomalaisen geenitiedot ja saada parempaa ymmärrystä sairausmekanismeista ja niiden avulla kehitellä uusia hoitokeinoja (Palotie ym., 2019).



*Kuva1: Reijo Norio (2000),*

*Suomi-neidon geenit, Otava*

Tämän kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on kuvailla yleisesti AGU-tautia ja siihen vaikuttavia syitä ja seurauksia, sekä mahdollisia hoitokeinoja ja käynnissä olevia tutkimuksia.

## 2. Aspartyyli-glukosaminuria

Aspartyyli-glukosaminuria eli AGU-tauti on resessiivisesti, eli peittyvästi periytyvä lysosomaalinen kertymäsairaus, ja on yksi suomalaisen tautiperinnön yleisimmistä sairauksista, vaikkakin harvinainen. AGU-tauti on Suomessa yleisempää kuin muualla maailmassa. Vuosittain AGU-tautiin sairastuu Suomessa 1-4 lasta ja sairastavia on tällä hetkellä ainakin 270 henkilöä, lisäksi joka 65. suomalainen kantaa AGU-taudin aiheuttavaa geenivirhettä (Rintahaka, 2018). Muualla AGU-tautia on havaittu muun muassa: Amerikassa, Japanissa ja muutamassa Euroopan maassa. 18 mutaatiota on tunnistettu ympäri maailmaa.

Aspartyyli-glukosaminuria löydettiin ensimmäisen kerran Britanniassa vuonna 1968 samaan perheeseen kuuluvilta sisaruksilta: nainen 32-vuotias ja mies 20-vuotias. Sisarusten virtsassa havaittiin suuri määrä 2-acetamido-1-(B-L-astatamido)-1,2-dideoksiglukoosia, joka tunnetaan myös nimellä aspartyyli-glukosamiini (Palo ja Autio, 1972). Samaan aikaan Suomessa tehdyssä tutkimuksessa havaittiin 11 potilasta, jotka kärsivät samanlaisista oireista ja myös heidän virtsastaan löytyi aspartyyli-glukosamiinia (Palo, 1967). Ensimmäisten löydösten jälkeen, AGU-tautia havaittiin yksittäisiä tapauksia ympäri maailmaa. Aspartyyli-glukosamiini on glykoproteiini, jonka pilkkomista AGA-entsyymi katalysoi (Ikonen ym. 1991). Glykoproteiineissa on hiilihydraattiryhmiä, jotka ovat kiinnittyneinä proteiiniin N-glykosidi-sidoksella. Tämän sidoksen pilkkominen tapahtuu lysosomeissa (Arvio & Mononen, 2016).

Sairaus johtuu mutaatiosta aspartyyli-glukosaminidaasi-nimistä entsyymiä tuottavassa AGA-geenissä (aspartyyli-glukosaminidaasigeeni), joka sijaitsee kromosomissa 4. Tämän mutaation seurauksena aspartyyli-glukosaminidaasi-entsyymin toiminta heikkenee ja aspartyyli-glukosamiinia ja muita glykoproteiineja kertyy lysosomiin. Kertyessään lysosomiin, nämä epänormaalit hajoamistuotteet aiheuttavat solujen toimintahäiriöitä useissa elimissä ja eniten ne vahingoittavat hermosolujen toimintaa aiheuttaen vaikea-asteista kehityshäiriötä. Syytä sille, miksi aspartyyli-glukosamiini vahingoittaa nimenomaan hermosoluja ei vielä tiedetä. Suomessa on havaittu kaksi mutaatiota, jotka aiheuttavat sairauden. 98% tapauksista johtuu yhden nukleotidin muutoksesta AGA-geenissä, jonka seurauksena kysteiini-aminohappo muuttuu seriini-aminohapoksi. Harvinaisempi AGU-taudin muoto johtuu kahden nukleotidin deleetiosta eli häviämästä AGA-geenissä (Arvio ym. 2016). Molemmat mutaatiot

aiheuttavat AGA-entsyymien toiminnan heikkenemisen ja sitä mukaan aspartyyli-glukosamiinin kertymisen lysosomeihin (Saarela ym., 2001)

## 2.1. Oireet

AGU ilmenee potilaan ulkonäössä, kasvussa, sosiaalisissa taidoissa, ruumiinrakenteessa ja terveydessä aiheuttaen vaikea-asteisen kehitysvamman, johon potilas kuolee tyypillisesti viimeistään 50 ikävuoden kohdalla. Naisten keskimääräinen elinikä on 40 vuotta ja miesten 35 vuotta. Vanhin todettu AGU-potilas kuoli 69-vuotiaana ikäisenä, joka poikkeaa kuolleisuusennusteista (Arvio ym., 1993).

Syntyessään AGU-potilaat ovat normaalinolaisia lapsia. Osalla vastasyntyneellä voidaan havaita napatyrä, mutta muita oireita ei vielä havaita. Oireita alkaa näkymään vauvaiässä kiihtyneenä kasvuna ja kasvojen epämuodostumisena. Kasvojen epämuodostumat aiheuttavat pienelle lapselle hengitystieinfektioita. Leikki-iässä potilaan oppimiskyky hidastuu, puheen alkaminen viivästyy, lisäksi tarkkaavaisuus ja motoriset taidot ovat heikommat muihin samanikäisiin verrattuna. Luonteeltaan AGU-lapset ovat vilkkaita, iloisia ja uteliaita. Sairauden eteneminen on lapsella vielä tasaista ja hidasta aina murrosikään asti. Murrosiän jälkeen sairauden vaikutukset näkyvät suurempina. Noin 15-vuotiaana AGU-potilaiden kehittyminen on 5-6 vuotiaiden tasolla. Heistä on nähtävissä kehitysvammaisuuteen viittaavia merkkejä ja luonteeltaan he ovat äkäisiä, mutta puheliaita. Kehitysvammaisuus aiheuttaa lyhytkasvuisuutta ja liikkuminen on kömpelöä. Kliininen diagnoosi AGU:sta voidaan tehdä 5 vuoden iässä (Arvio ym., 1993).

Aikuisiässä, eli noin 25 ikävuoden jälkeen oireet pahenevat radikaalisti ja yleinen toimintakyky katoaa, jolloin potilas ei selviä yksin askareistaan. Potilaan henkinen kyky on tässä vaiheessa taaperon tasolla. Keski-iässä potilaat ovat hiljaisia ja rauhallisia, mutta mikäli heitä häiritään, he voivat muuttua aggressiivisiksi. Sairaus etenee nopeasti vaikea-asteiseen kehitysvammaan. AGU:n yhteydessä voi esiintyä epilepsiaa, nivelreumaa ja osteoporoosia. Todennäköisin kuolinsyy AGU-potilailla on kuitenkin keuhkokuume (Arvio ym., 1993)

## 2.2. Diagnoosi ja hoito

Aspartyyli-glukosaminuria voidaan todeta kliinisen tutkimuksen ja geenitestauksen avulla. Virtsasta mitataan aspartyyli-glukosamiinin pitoisuus ja veren lymfosyyteistä tai fibroblasteista voidaan määrittää aspartyyli-glukosaminidaasi-entsyymin aktiivisuus. Eksonien sekvenssoinnilla voidaan havaita homotsygoottiset mutaatiot AGA-geenissä (Yamamoto, 2016). Potilaan ulkonäössä AGU ilmenee rakennemuutoksista, joista yleisimpiä ovat suuri nenä, pienet korvat, paksut huulet ja lyhytkasvuisuus.

AGU-tautia ei voida vielä parantaa, mutta sen oireita voidaan helpottaa muun muassa antibiooteilla. Antibiootteja käytetään ihoinfektioihin, kuten paiseisiin. Jotkut aikuiset käyttävät epilepsialääkkeitä ja osa lapsipotilaista ja aikuispotilaista tarvitsevat kirurgisia toimenpiteitä. AGU-potilailta voidaan joutua leikkaamaan kita- tai nielurisat. Joissain tapauksissa tyrän tai jalkapöydän leikkaus voi helpottaa arkea. Useiden korvatulehdusten välttämiseksi voidaan tehdä tympanostomia, eli korvien ”putkitus”.

Mikäli AGU-taudin leviämistä halutaan välttää, voidaan tehdä sikiöseulontaa. Eli, jos perheessä tiedetään esiintyvän AGU-taudin kantajia, sairaus voidaan todeta raskauden aikana istukkanäyte- tai lapsivesitutkimuksella. Tällä tavalla perhe voi päättää haluavatko keskeyttää raskauden. Kuitenkin yleiset tautiperinnön kantajien seulontatutkimukset on osoitettu hyödyttömiksi. Suomessa syntyy keskimäärin 3 AGU-lasta vuodessa, täten seulontatutkimukset löytäisivät harvoin pareja, joista molemmat ovat kantajia (Kääriäinen ym., 2007).



### 3. Aspartyyli-glukosaminidaasi (AGA-geeni) ja sen mutaatiot

Aspartyyli-glukosaminidaasin valmistusohjeet löytyvät AGA-geenistä. AGA-geenin sijainti paikannettiin kromosomiin 4 paikalle q32-q33 (Aula ym., 1984). Geeni kloonattiin ja sekvensoitiin vuonna 1990, jonka jälkeen geenin eri muodot havainnoitiin tarkastellen snippejä, eli yhden emäksen monimuotoisuutta DNA-ketjussa (Fisher ym., 1990)

Mutaatioiden aiheuttamat virheet geneettisessä koodissa ovat syy geneettisten sairauksien syntyyn. Sirppisoluanemia oli ensimmäinen todiste siitä, että yhden aminohapon muutos geenissä voi aiheuttaa proteiinin toiminnan muuttumisen ja tämän seurauksena geneettisen sairauden. Suomessa AGA geenistä on havaittu ilmenevän kahtaa mutaatiota, jotka johtavat lysosomaaliseen kertymäsairauteen: AGU<sub>fin</sub> major ja AGU<sub>fin</sub> minor (Saarela ym., 2001).

#### 3.1. AGU<sub>fin</sub> major

Suomessa AGU-taudin valtamutaatioksi nimetty AGU<sub>fin</sub> major on yhden nukleotidin pistemutaatio AGA-geenissä. Tässä mutaatiossa kysteini-aminohappo muuttuu seriini-aminohapoksi AGA:n polypeptidiketjussa paikassa 163(K163S) aiheuttaen aspartyyli-glukosaminidaasi-entsyymin vääränlaisen laskostumisen (Ikonen ym., 1991). Aspartyyli-glukosaminidaasin aktiivisuus heikkenee ja se hajoaa solulimakalvostolle (Arvio ym., 2002).

*Ikonen ym. (1991)*, tutkimuksessa löydettiin sama mutaatio 20 AGU-potilaalta southern blot-analyysia käyttämällä. Heterotsygoottina se löydettiin 53 kantajalta. Yhdeltäkään 67 kontrollista mutaatiota ei löydetty (Ikonen ym., 1991). Southern blot-menetelmällä voidaan tunnistaa tietty DNA-jakso koko DNA-näytteestä.

Suomessa 98 % sairastavista johtuu AGU<sub>fin</sub> major geenimutaatiosta. AGU<sub>fin</sub> major on levinnyt koko Suomen alueelle.

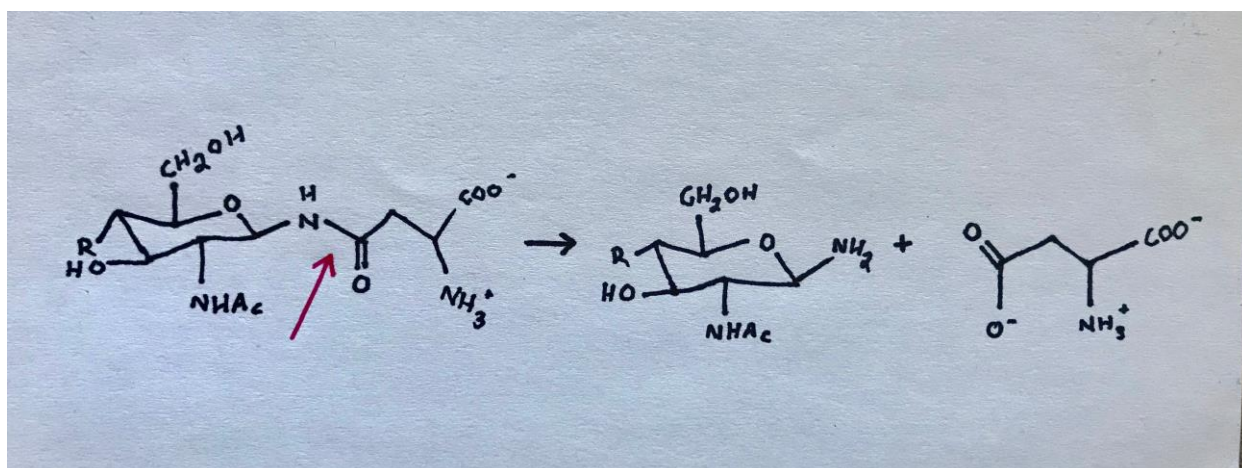
#### 3.2. AGU<sub>fin</sub> minor

Toinen Suomessa esiintyvä AGU-mutaatio AGU<sub>fin</sub> minor johtuu 2 nukleotidin häviästä geenin toisessa eksonissa. Häviämä aiheuttaa ennenaikaisen lopetuskodonin lukemisen, jonka seurauksena entsyymi ei toimi normaalilla tavalla. Suurimmaksi osaksi AGU<sub>fin</sub> minor kantajat ovat heterotsygootteja, joissa toinen alleeli on AGU<sub>fin</sub> major-mutaatio ja toinen alleeli AGU<sub>fin</sub> minor-mutaatio (Isoniemi ym., 1995).

AGU<sub>fin</sub> minor aiheuttaa 1,5 % tapauksista. Sitä esiintyy Suomen etelä- ja lounaisrannikolla. Haplotyyppianalyysien ja maantieteellisen sijoittumisen myötä voidaan todeta, että kaikki AGU<sub>fin</sub> minor tapaukset ovat saman mutaation aiheuttamia (Valkonen ym., 1999).

#### 4. Aspartyyli-glukosaminidaasi (AGA)

Aspartyyli-glukosaminidaasi-entsyymi (AGA) on lysosomaalinen amidohydrolaasi, joka on aktiivisena lysosomeissa. Lysosomissa aspartyyli-glukosaminidaasi (AGA) osallistuu glykoproteiinin pilkkomisen viimeisiin vaiheisiin katalysoimalla glykosididoksen asparagiinin ja N-asetyyli-glukosamiinin välistä (kuva2) (Banning ym., 2016). AGA katalysoi myös  $\beta$ -aspartyylipeptidien synteesiä ja hajoamista, sekä L-asparagiinin hydrolyysiä (Noronkoski ym., 1998&1997). AGA onnistuttiin eristämään puhtaasti ensimmäistä kertaa ihmisen maksasta vuonna 1989 (Baumann ym., 1989) ja tämän jälkeen virtsasta vuonna 1991 (Kaartinen, 1991) ja leukosyyteistä eli valkosoluista vuonna 1991 (Halila ym. 1991).



Kuva2: AGA-entsyymin katalysoima reaktio. AGA-entsyymi pilkkoo N4-( $\beta$ -N-asetyyli-D-glukosamiini)-L-asparagiinista glykosididoksen nuolen osoittamasta paikasta, jolloin hajoamistuotteiksi jäävät aminoglykaani ja L-aspartaatti (Kuva mukailtu Oinonen ym., 1995)

Aspartyylioglukosaminidaasin translaatio on monimutkainen prosessi. Se koodataan ensin translaatiossa 346 aminohapon pituiseksi peptidiketjuksi, joka sitten pilkotaan solulimakalvostolla. Kaksi identtistä peptidiä liittyy toisiinsa dimerisaatioksi kutsutussa reaktiossa, josta syntyy dimeerikompleksi. Kompleksi aktivoidaan autokatalyyttisesti rikkomalla peptidisidos aminohappojen D205 ja Thr206 välistä. Aspartyylioglukosaminidaasista saadaan tetrameerinen molekyyli, joka koostuu kahdesta  $\alpha$ - ja kahdesta  $\beta$ -osasta (Saarela, 2001). AGA:n rakenne ja mekanismi on määritetty vuonna 1995 ja 1996 (Oinonen ym., 1995, Tikkanen ym., 1996).

Kompleksin pilkkominen  $\alpha$ - ja  $\beta$ - osaksi paljastaa Thr206  $\alpha$ -aminoryhmän, joka on välttämätön aspartyylioglukosaminidaasin katalyyttiselle toiminnalle, sillä se toimii aktiivisena kohtana. Entsyymien aktiiviseen kohtaan liittyy substraatti, eli pilkottava lähtöaine. AGU:n tapauksessa glykoproteiini. Katalyyttisesti aktiivinen aspartyylioglukosaminidaasi viimeistellään golgin laitteessa lisäämällä siihen lysosomaalinen kohdesignaali, mannoosi-6-fosfaatti, joka kuljettaa entsyymien oikeaan paikkaan toimiakseen, eli lysosomiin, jossa sen on määrä pilkkoa glykoproteiineja (Saarela ym., 1998).

Edellisten perusteella AGA on todella herkkä mutaatioille. Toimiakseen oikein AGA:n on aluksi laskostuttava oikein solulimakalvostolla ja peptidisidoksen on pilkkouduttava aktiivisten kohdan paljastamiseksi. Lisäksi on tärkeää, että golgin laitteessa tapahtuva signaalin lisääminen onnistuu, jotta AGA päätyy lysosomeihin.

AGA-geenissä tapahtuvien mutaatioiden seurauksena aspartyylioglukosaminidaasin toiminta heikkenee, sillä mutaatiot vaikuttavat aspartyylioglukosaminidaasin laskostumiseen ja aktivoinnin säätelyyn. Yleisin mutaatioiden aiheuttama ongelma on, ettei aspartyylioglukosaminidaasikompleksia pilkota aminohappojen D205 ja Thr206 välistä, jolloin aktiivinen kohta ei tule esille (Saarela, 2001).

Heikentynyt aspartyylioglukosaminidaasi-entsyymien tehokkuus korreloi suoraan glykoproteiinien pilkkomisen kanssa ja näin ollen epänormaalia hajoamistuotetta pääsee kertymään lysosomeihin aiheuttaen aspartyylioglukosaminuriaa.

## 5. Tulevaisuuden näkymät

AGU-tautiin on tutkittu erilaisia parannuskeinoja ympäri maailmaa. Potentiaalisimmiksi ovat osoittautuneet entsyyminkorjaushoito ja geeniterapia. Nämä hoitomuodot vaativat kuitenkin vielä enemmän tutkimusta, jotta niiden avulla voitaisiin hoitaa AGU-potilaita. Lääkkeiden kehittämisessä on myös edistytty ja tuloksia odotellaan lähivuosille.

Tällä hetkellä monien hoitokeinojen tutkimista on helpottanut hiirimallit. Kaartisen tutkimusryhmä kehitti ensimmäisen AGU-hiiren, jolta puuttuu AGA-entsyymiin aktiivisuus kokonaan. 5-10 kuukautisilla hiirillä havaittiin suuria määriä aspartyyli-glukosamiinia virtsassa, niiden motorinen koordinaatio ja tasapaino olivat huonot, sekä ulkonäössä voitiin havaita muutoksia. Hiirten taudin eteneminen voitiin todeta olevan vastaavanlainen kuin ihmisellä varhaisessa aikuisiässä (Kaartinen ym., 1996). AGU-hiirillä AGA-geenin mutaatioita voidaan tarkastella paremmin ja mahdollisia parannuskeinoja testata hiirillä ennen ihmisiin testaamista (Jalanko ym., 1998).

Entsyyminkorjaushoidoissa on kokeiltu pienimolekyylisiä lääkeaineita, jotka voisivat liittyä mutatoituneeseen AGA-entsyymiin ja stabiloida sen rakennetta, jotta se laskostuisi ja pilkkoutuisi oikein. Näistä yhdisteistä lupaavin on betaiini. Betaiinia on käytetty hoitona muihin sairauksiin, mutta sen tehoa AGU-tautiin tutkitaan vielä (Banning ym., 2016).

Saksassa on meneillään Ritva Tikkasen vetämä tutkimusryhmä, joka tutkii lääkehoitoa AGU-tautiin ja tulokset ovat olleet lupaavia. Tehokkaimmaksi lääkkeeksi on osoittautunut Cystadane-niminen lääkevalmiste. Ritva Tikkanen ja Minna Laine ovat saaneet rahoituksen lääkkeen kliiniseen tutkimukseen syksyllä 2017. Mukana on 15 suomalaista alle 15-vuotiasta AGU-lastä, jotka sairastavat AGU<sub>fin</sub> major-mutaatiota. Kokeen päätarkoituksena on tutkia Cystadane-lääkkeen teho AGU-taudin hoidossa. Kokeessa tarkastellaan 48 kuukauden ajan aspartyyli-glukosamiinin eriytymistä virtsaan, AGA-entsyymiin aktiivisuutta, potilaan henkistä kehitystä psykologisilla testeillä, arjen toimintakykyä ja elämänlaatua (Banning ym., 2016).

*Autti ym.*, testasivat luuydinsiirtoa kahdelle 2- ja 2,6- vuotiaalle lapselle 1997. Neljän ja seitsemän vuoden pituisen seuraamisjakson jälkeen tutkimusryhmä havaitsi aspartyyli-glukosaminidaasin tehostuneen toiminnan leukosyyteissä, vähentyneen

aspartyyli-glukosamiinin kertymisen virtsassa ja psykologiset testit paljastivat paremmat koordinaatiokyvyt ja keskittymisen (Autti ym., 1997). Luuydinsiirtoa kokeiltiin myös 19 vanhemmalle AGU-potilaalle vuosina 1991 ja 1997. Ainoastaan viidelle kokeiluun osallistuneista luuydinsiirto onnistui ja heidän tilansa parani. Kuitenkin suurimman osan tilanne huononi entisestään ja tämän syystä luuydinsiirtoa ei suositella vanhemmille AGU-potilaille ennen uudempaa tutkimusta (Arvio, 2000).

Adenovirusta (AAV) on testattu vektorina geeniterapiassa AGU-tautia vastaan. Adenovirusvektorilla kuljetetaan haluttu geeni haluttuun kohdesoluun. Adenovirusterapiaa on tähän mennessä kokeiltu onnistuneesti AGU-hiirillä ja siinä olisi potentiaalia aloittaa kliininen tutkimus ihmisillä (Peltola ym., 1998). Yhdysvalloissa on suunnitelmissa toteuttaa ensimmäinen AGA-geenin siirto ihmisille, jonka tavoitteena on siirtää AGU-potilaalle toimiva AGA-geeni, joka saisi AGA-entsyymin toimimaan normaalisti (Neurogene inc, 2019).

Erilaisilla hoitokeinoilla pyritään korjaamaan entsyymin toimintaa. Eri mutaatioille toimivat erilaiset hoitokeinot, sillä joissain tapauksissa entsyymi on toimintakykyinen, mutta aktivoinnissa on tapahtunut virhe, eikä tästä syystä pilko glykoproteiineja. Joissakin tapauksissa taas entsyymin laskostumisessa on tapahtunut virhe, eikä se siitä syystä toimi.

## 6 Yhteenveto

AGU-tauti on perinnöllinen sairaus. Saadessaan molemmilta vanhemmilta AGA-geenin kopion lapsi sairastuu AGU-tautiin. AGA-geenissä on informaatio AGA-entsyymien (aspartyyli-glukosaminidaasi) valmistamiselle, joka on oleellisena osana aspartyyli-glukosamiinin pilkkomisessa. Mikäli AGA-entsyymi on laskostunut oikein ja aktivoitu, niin se pilkkoo aspartyyli-glukosamiinista glykosidisidoksen lysosomeissa ja hajoamistuotteet hävitetään normaalisti. AGU-taudissa AGA-entsyymien toiminta on heikentynyt, eikä se pilkko aspartyyli-glukosamiinia, jonka seurauksena aspartyyli-glukosamiinia kertyy lysosomeihin aiheuttaen vaikea-asteisen kehitysvamman, johon potilas kuolee viimeistään 50 ikävuoden päästä.

AGU on yksi 36:sta suomalaisen tautiperintöön kuuluvasta sairaudesta ja se on yleisempää Suomessa, kuin muualla maailmassa. Suomessa esiintyvät AGU mutaatiot: AGU<sub>fin</sub> major ja AGU<sub>fin</sub> minor aiheuttavat aspartyyli-glukosaminidaasin toiminnan heikkenemisen puuttumalla aspartyyli-glukosaminidaasin laskostumiseen ja aktivoimiseen.

AGU-tautiin ei ole vielä löydetty parannuskeinoa, mutta oireita voidaan helpottaa erilaisilla lääkkeillä ja leikkauksilla. Tämän hetken lupaavimpana mahdollisena hoitona pidetään Cystadane- nimistä lääkeainetta, joka sitoutuu mutatoituneeseen AGA-entsyymiin ja stabiloi sen rakennetta. Tutkimuksen on määrä valmistua 2021.

AGU-taudin mekanismien tutkiminen on mahdollistanut uusien hoitokeinojen kehittämistä niin AGU-taudille, kuin myös muille lysosomaalisille sairauksille. AGU-taudin haaste on löytää siihen parannuskeino, lisäksi selvittää miksi aspartyyli-glukosamiinin kertyminen vahingoittaa juuri hermosolujen toimintaa eniten.

## 7 Lähdeluettelo

- Arvio P. & Arvio M. (2002) Progressive nature of aspartylglucosaminuria. *Acta Paediatr*, 91, pp. 255-257.
- Arvio M. & Mononen I. (2016) Aspartylglucosaminuria: a review, *orphanet Journal of rare diseases*, 11, pp. 162.
- Arvio M, Oksanen V, Autio S, Gaily E, Sainio K. (1993) Epileptic seizures in patients with aspartylglucosaminuria —a common disorder. *Acta Neurol Scand*, 87, pp. 342–344.
- Arvio M., Sauna-Aho O., Peippo M. (2000) Bone marrow transplantation for aspartylglucosaminuria: follow-up study of transplanted and non-transplanted patients, *The journal of pediatrics*, 138(2), pp. 288-290.
- Autti T., Santavuori P., Raininko R., Renlund M., Rapola J., Saarinen-Pihkala U. (1997) Bone-marrow transplantation in aspartylglucosaminuria. *Neuropreiatrics* 30, pp. 283-288.
- Banning A, Schiff M, Tikkanen R. (2018) Amlexanox Provides a Potential Therapy for Nonsense Mutations in the Lysosomal Storage Disorder Aspartylglucosaminuria. *BBA - Molecular Basis of Disease*, 1864, pp. 668-675.
- Banning A., Gulec C., Rouvinen J., Gray S., Tikkanen R. (2016) Identification of small molecule compounds for pharmacological chaperone therapy of aspartylglucosaminuria, *Scientific reports* 6: 37583
- Fisher K., Tollersrud O., Aronson Jr. (1990) Cloning and sequence analysis of a cDNA for human glycosylasparaginase: a single gene encodes the subunits of this lysosomal amidase. *FEBS Lett.* 269, pp. 440-444.
- Halila R, Baumann M, Ikonen E, Enomaa N, Peltonen L. (1991) Human leucocyte aspartylglucosaminidase. Evidence for two different subunits in a more complex native structure. *Biochem J.*, 276, pp. 251-256
- Ikonen E., Aula P., Grön K., Tollersrud O., Halila R., Manninen T., Syvänen AC., Peltonen L., (1991) Spectrum of mutations in aspartylglucosaminuria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, pp. 11222-11226.
- Norio R. (2000) Suomi-neidon geenit. *Otavan kirjapaino Oy*
- Norio R, Perheentupa J, Nevanlinna HR. (1973) Hereditary diseases in Finland; rare flora in rare soil. *Ann Clin Res.* 5(3), pp. 109-141.
- Oinonen C, Tikkanen R, Rouvinen J, Peltonen L. (1995) Three-dimensional structure of human lysosomal aspartylglucosaminidase. *Nat Struct Biol*, Dec;2(12):1102-8.
- Palo J. (1967) Prevalence of phenylketonuria and some other metabolic disorders among mentally retarded patients in Finland. *Acta Neurol Scand.* 43(5), pp. 573-579.
- Palo J, Autio S. (1972) Aspartylglucosaminuria. *Duodecim*, 88, pp. 24-29.
- Palotie A., Kaunisto M., Harju J., Pitkänen K., Perola M., Jalanko A. (2019) Finngen-tutkimuksen lupaukset, *Duodecim*, 135(10).

Peltola M, Kyttälä A, Heinonen O, Rapola J, Paunio T, Revah F, Peltonen L, Jalanko A, (1998) Adenovirus-mediated gene transfer results in decreased lysosomal storage in brain and total correction in liver of aspartylglucosaminuria (AGU) mouse. *Gene Ther*, 5, pp. 1314-1321

Peltonen L., Jalanko A., Varilo T. (1999) Molecular genetics the finnish disease heritage. *Human Molecular Genetics*, 8(10), pp. 1913–1923.

Saarela J., Laine M., Oinonen C., von Schantz C., Jalanko A., Rouvinen J., Peltonen L. (2001) Molecular pathogenesis of a disease: structural consequences of aspartylglucosaminuria mutations. *Hum. Mol. Genet.* 10, pp. 983-995.

Saarela J., Laine M., Tikkanen R., Oinonen C., Jalanko A., Rouvinen J., Peltonen L. (1998) Activation and oligomerization of aspartylglucosaminidase. *J. Biol. Chem.* 273, pp. 25320-25308.

Valkonen S., Hietala M., Savontaus M., Aula P. (1999) Origin of finnish mutations causing aspartylglucosaminuria. *Hereditas* 131, pp. 191-195.